



Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 29 Absatz 1 des Patentgesetzes

ISSN 0433-6461

(11)

160 582

Int.Cl.³

3(51) C 07 G 7/00

AMT FUER ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

(21) WP C 07 G/ 2207 02

(22) 25.04.80

(45) 02.11.83

(71) siehe (72)

(72) EBELING, GERD; GUDDAT, WERNER, DR. DIPL.-CHEM.; HILLGER, KARL, DR. DIPL.-CHEM.; STAHL, LUTZ; DD;

(73) siehe (72)

(74) DIPL.-JUR. E. FRITZSCHE, INSTITUT FUER IMPFSTOFFE DESSAU, 4500 DESSAU, JAHNSTR.

8

(54) **HERSTELLUNG VON ALBUMIN UNTER VERWENDUNG VON WAERMEUEBERTRAGERSYSTEMEN**

(57) Die Erfindung betrifft eine besondere Verfahrensweise bei der Technologie der Hitze fraktionierung zur Gewinnung von Albuminen. Das Ziel der Erfindung besteht darin, das Risiko der Verkeimung und damit der Bildung pyrogener Stoffe in o. g. Verfahren auszuschalten, die Zeitdauer des Verfahrens zu verkürzen, die Wärmebelastung des Humanplasma zu reduzieren sowie energetisch effektivere Verfahrensweisen anzuwenden. Anwendungsgebiete sind (industrielle) Plasmafraktionierungseinrichtungen für Humanalbumin und tierische Albumine.

Herstellung von Albumin unter Verwendung von Wärmeübertragersystemen

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft eine Verfahrenstechnologie zur Isolierung von Albumin aus menschlichen und tierischen Seren und Plasmen. Besonders geeignet ist das Verfahren für alle Einrichtungen, in denen die Plasmafraktionierung zur Gewinnung von Infusionsalbumin industriemäßig betrieben wird.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Zur Isolierung von Albumin aus Plasmen und Seren im technischen Maßstab werden im Wesentlichen 2 Verfahrenswege beschrieben. Das ist einmal die Cohn-Methode (J. Am. Chem. Soc. 68, 459 (1946)) sowie Varianten dieser Methode.

Sie liefert in einer Ausbeute von etwa 70 % Albumin mit einer Reinheit von 95 - 98 % am Ende eines 5-stufigen Fraktionierungsprozesses. Die gesamte fraktionierte Abtrennung nach der Cohn-Methode erfordert bei normalen 8-Stunden-Arbeitstagen einen Zeitaufwand von etwa 6 - 8 Tagen.

Des weiteren müssen alle Arbeiten bei Temperaturen unter 0°C durchgeführt werden.

Demgegenüber stellt der zweite Verfahrensweg, die Hitzedenaturierung aller Plasmaproteine mit Ausnahme des Albumins und seine Abtrennung, eine entschiedene Verbesserung dar.

(P 2415079) DE, DDR WP 141 025

Mit über 90%iger Ausbeute wird ein Produkt mit fast 100%iger
Reinheit erhalten. Der Zeitaufwand beträgt bezogen auf nor-
male 8-Stundentage 3 Tage. Der technische Aufwand ist bei
dieser Verfahrensweise gegenüber der Cohn-Methode wesentlich
5 verringert.

Der entscheidende Teilschritt der Hitzefraktionierung be-
steht darin, das Albumin enthaltende Plasma oder Serum unter
Zusatz von Alkohol bzw. PEG und Substanzen mit stabilisie-
renden Eigenschaften auf 60-80°C zu erhitzen. Unter diesen
10 Bedingungen werden die Globuline vollständig ausgefällt,
während das Albumin in Lösung bleibt. Die Abtrennung der
Globuline erfolgt durch Anschwemmfiltration.

Das Albumin ist im Filtrat in reiner Form enthalten und wird
entweder durch Fällungsreagenzien oder durch Ultrafiltration
15 auf die gewünschte Konzentration gebracht.

Ziel der Erfindung

Das Ziel der Erfindung besteht in der Verbesserung eines
wichtigen technischen Teilschrittes im Hitzefraktionierungs-
verfahren zur Herstellung von Infusionsalbumin, indem durch
20 die Vermeidung des Bakterienwachstums während der Aufheiz-
zeit pyrogene Kontaminationen unterbleiben und neben der
Reduzierung von Arbeitszeit und Energie eine effektivere
Wärmeübertragung und eine bessere Kontrollfähigkeit des
Denaturierungsprozesses ermöglicht werden.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Bei den bekannten Verfahren der Hitzefraktionierung erfolgt
der Erhitzungsprozeß des Ausgangsmaterials unter ständigem
Rühren in Doppelmanteldruckbehältern oder durch eine Wärme-
übertragung über Heizschlangen, die im Rührkessel unterge-
30 bracht sind.

Diese Verfahrensweise hat den Nachteil, daß zur Erwärmung
größerer Plasmavolumina von +4°C auf 68°C bzw. 76°C bis zu
5 Stunden gebraucht werden. Während dieser Zeit wird im
Bereich zwischen 15-45°C die Wachstumsrate vorhandener Mikro-
35 organismen besonders begünstigt und damit auch die Bildung

pyrogen wirkender Bakterienstoffwechselprodukte.

Ein weiterer Nachteil dieser Verfahrensweise ist, daß die Temperaturdifferenzen zwischen den Heizflächen und dem Medium groß gewählt werden müssen, um bei der relativ kleinen
5 Heizfläche eine Aufheizung in vertretbarer Zeit zu erreichen. Das führt an der Oberfläche zu Denaturierungen und somit zu Ausbeuteverlusten und Qualitätseinbußen am Infusionsalbumin.

Die Energieausnutzung zur Erwärmung des Plasmas oder Serums ist mit diesen Systemen, Heizschlangen oder Doppelmantel-
10 druckbehältern, wenig effektiv.

Diese Probleme bei der Temperaturübertragung und die daraus folgenden Nachteile wie Bakterienwachstum, Zeitaufwand, Energieausnutzung, treten auch in der Abkühlphase auf.

Erfindungsgemäß wurden diese Nachteile durch den Einsatz von
15 Wärmeübertragungssystemen zur Isolierung von Infusionsalbumin im technischen Maßstab beseitigt.

Erfindungsgemäß ist das Verfahren durch nachstehende Schritte gekennzeichnet:

- 20 - Einsatz von gepooltem Plasma mit einer Temperatur von $+4^{\circ}\text{C}$ - $+6^{\circ}\text{C}$ ohne vorherige Sterilfiltration
- Erhitzen des Plasmas in Anwesenheit von Polyethylenglycol oder Alkohol und einer stabilisierenden Substanz im Durchfluß in einem Wärmeübertragungssystem auf 76°C bzw. 68°C
- 25 - Fortsetzung des Erhitzungsprozesses in einem Heißhaltebehälter mit Rührwerk für 30 Minuten bei 76°C bzw. 68°C
- Abkühlung des Gemisches in einer 2. Sektion des Wärmeübertragungssystems auf $\sim +10^{\circ}\text{C}$
- Anschwemmfiltration zur Abtrennung der denaturierten Globuline
- 30 - Aufarbeitung des Albuminüberstandes zu Infusions-Albumin in bekannter Weise

Die Realisierung der Verfahrensschritte kann nach folgenden technischen Varianten erfolgen:

Das Erhitzen des Plasmas oder Serums erfolgt im Durchfluß in einem Wärmeübertragungssystem. Durch die rasche Erhitzungszeit von ~ 8 sec. und die noch kürzere Bebrütungsphase zwischen $+15$ und $+45^{\circ}\text{C}$, die nur ~ 5 sec. in Anspruch nimmt, wird eine Bakterienvermehrung ausgeschlossen. Damit ist der Einsatz von gepooltem Material ohne vorherige Sterilfiltration möglich. Vom Wärmeübertragungssystem gelangt das erhitzte Produkt in einen Heißhaltebehälter mit Rührwerk, in dem es 30 Min. bei dieser Temperatur gehalten wird. Nach dieser Zeit wird die entstandene Suspension im Durchfluß durch ein Wärmeübertragungssystem rasch auf $+10^{\circ}\text{C}$ abgekühlt. Die Abkühlzeit beträgt etwa 9 sec.

Die ausgefällten Globuline werden mittels Anschwemmfiltration oder Zentrifugen abgetrennt. Das Albumin kann mit herkömmlichen Fällungsmitteln aus dem Überstand ausgefällt werden. Vorteilhafter ist es jedoch, Reinigung und Konzentrierung des Albumins gleichzeitig in einem Diafiltrationsschritt durchzuführen.

Ausführungsbeispiel 1

Als Ausgangsmaterial dient Spenderplasma, welches HB_S -Ag negativ ist und normale Transaminasewerte aufweist. Dem Ausgangsplasma wird bei einer Temperatur von $+4^{\circ}\text{C}$ Natrium-Caprylat in einer Konzentration von 0,01 Mol zugefügt, mit 3% Polyethylenglycol MG 4000 versetzt und mit 1 n HCl auf einen pH-Wert von 6,5 eingestellt. Das Gemisch wird im Durchlauf in einem Wärmeübertragungssystem (17 l/min auf 76°C) erhitzt und in einem Heißhaltebehälter unter Rühren 30 Min. bei dieser Temperatur gehalten. Aus dem Heißhaltebehälter fördert man das Produkt über die Kühlsektion des Wärmeübertragungssystems in einen auf 10°C gekühlten Vorratsbehälter mit Rührwerk.

In diesem wird mit 1 n Salzsäure der pH-Wert auf 5,0 eingestellt, mit einem Filterhilfsmittel versetzt und durch eine Anschwemmfiltration klar filtriert. Der Filterkuchen wird gewaschen und das klare Waschwasser mit dem Filtrat vereinigt.

Die vereinigten Filtrate werden über Tiefenfilter filtriert und mit Polyethylenglycol bis auf einen Gehalt von 22% versetzt, wobei das Albumin als Paste abgeschieden wird. Die Albuminpaste wird durch Zentrifugation abgetrennt, in bi-
5 destilliertem Wasser aufgenommen, dialysiert sowie der gewünschte Proteingehalt und die Osmolalität eingestellt. Nach Filtration erfolgt die Abfüllung in Infusionsbehältnisse und die Pasteurisierung des Albumins 10 h bei 60°C unter Zusatz von Stabilisatoren.

10 Ausführungsbeispiel 2

Als Ausgangsplasma wird wie unter 1 beschrieben Plasma eingesetzt. Dieses wird mit Natriumcaprylat 0,01 Mol und 9% Methanol versetzt. Mit 1 n Salzsäure wird die Lösung auf einen pH-Wert von 6,5 eingestellt. Im Durchlauf wird das Gemisch in
15 einem Wärmeübertragungssystem auf 68°C erhitzt und bei dieser Temperatur in einem Heißhaltebehälter unter Rühren 30 Min gehalten. Aus diesem wird die erhaltene Suspension im Durchlauf in einem Wärmeübertragungssystem auf 10°C abgekühlt. Danach wird das Produkt wie in Beispiel 1 weiterverarbeitet.

Erfindungsanspruch

Verfahren zur Isolierung von Albumin aus menschlichem oder tierischem Plasma bzw. Bluteiweiße enthaltenden Fraktionen in Gegenwart von Polyethylenglycol oder Alkoholen und Stabilisatoren, dadurch gekennzeichnet, daß die Plasmen bzw. Fraktionen in Wärmeübertragungssystemen erhitzt und die erhitzten Suspensionen ebenfalls in Wärmeübertragungssystemen abgekühlt werden.